

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

19.08.2004

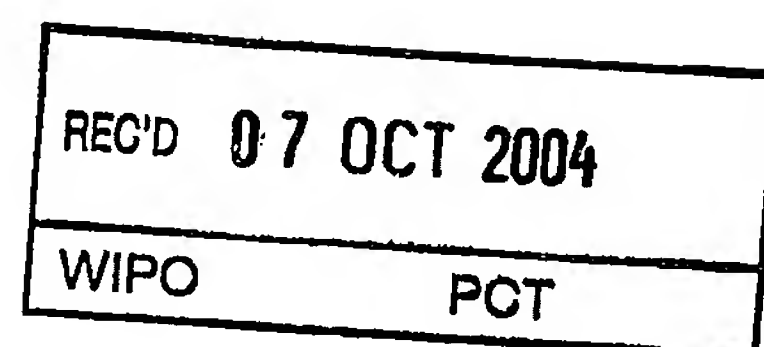
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2003年 8月19日

出願番号
Application Number: 特願2003-294766
[ST. 10/C]: [JP2003-294766]

出願人
Applicant(s): 国立循環器病センター総長

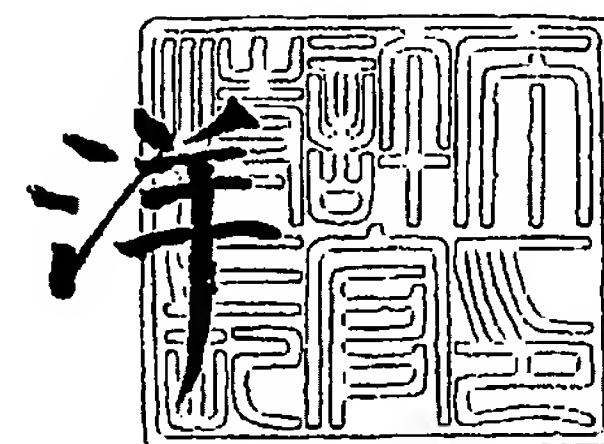


PRIORITY
DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1 (a) OR (b)

2004年 9月24日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川



出証番号 出証特2004-3085760

【書類名】 特許願
【整理番号】 DP-3352
【提出日】 平成15年 8月19日
【あて先】 特許庁長官殿
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号 国立循環器病センター内
 【氏名】 藤里 俊哉
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号 国立循環器病センター内
 【氏名】 小越 拓郎
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号 国立循環器病センター内
 【氏名】 菅 裕介
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号 国立循環器病センター内
 【氏名】 岸田 晶夫
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号 国立循環器病センター内
 【氏名】 中谷 武嗣
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号 国立循環器病センター内
 【氏名】 北村 惣一郎
【特許出願人】
 【識別番号】 591108880
 【氏名又は名称】 国立循環器病センター総長
【代理人】
 【識別番号】 100060368
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 赤岡 迪夫
【選任した代理人】
 【識別番号】 100124648
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 赤岡 和夫
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1
 【物件名】 要約書 1

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

細胞を播種すべき材料と細胞分散液とを収容した培養容器を、2つの異なる回転軸を中心にして回転させる細胞播種装置であって、該装置の回転駆動部材のうち、少なくとも1つの該回転駆動部材の軸芯が該培養容器の該回転軸とオフセットした位置に配置されていることを特徴とする細胞播種装置。

【請求項 2】

細胞を播種すべき材料と細胞分散液とを収容した該培養容器と、該培養容器を回転自在に、かつ取外し自在に固定し、そして該培養容器を第1の回転軸を中心にして回転させるための第1の回転駆動装置と、該第1の回転駆動装置を第1の回転軸とは異なる第2の回転軸を中心にして回転させるための第2の回転駆動装置とからなり、該第1の回転駆動装置と該第2の回転駆動装置は相互に独立して回転および停止が可能であり、かつ該第1の回転駆動装置は第2の回転駆動装置から取外し可能であることを特徴とする、請求項1に記載の細胞播種装置。

【請求項 3】

該培養容器を該第1の回転軸を中心にして回転させるための手段は、該培養容器本体の外周領域を取り囲み、かつ該培養容器を支持するように取付けられた第1の回転部材と、該第1の回転駆動装置の第1の回転駆動部材との間に生じる摩擦抵抗を利用することにより、該第1の回転駆動部材から該第1の回転部材へ回転運動が伝達されることを特徴とする、請求項1または2に記載の細胞播種装置。

【請求項 4】

該培養容器の該第1の回転部材は、該培養容器の円筒形外表面よりなることを特徴とする、請求項3に記載の細胞播種装置。

【請求項 5】

該第1の回転駆動装置を該第2の回転軸を中心に回転させるための手段は、該第1の回転駆動装置のハウジングを支持するように取付けられた第2の回転部材と、該第2の回転駆動装置の第2の回転駆動部材との間に生じる摩擦抵抗を利用することにより、該第2の回転駆動部材から該第2の回転部材へ回転運動が伝達されることを特徴とする、請求項1乃至4いずれかに記載の細胞播種装置。

【請求項 6】

該培養容器は該第1の回転軸を中心にして回転し、該第1の回転駆動装置は該第1の回転軸とは異なる該第2の回転軸を中心にして回転し、かつ該第1の回転軸と該第2の回転軸とは互いに交差していることを特徴とする、請求項1乃至5いずれかに記載の細胞播種装置。

【請求項 7】

該培養容器は該第1の回転軸を中心にして回転し、該第1の回転駆動装置は該第1の回転軸とは異なる該第2の回転軸を中心にして回転し、かつ該第1の回転軸と該第2の回転軸とは互いに交差していないことを特徴とする、請求項1乃至5いずれかに記載の細胞播種装置。

【請求項 8】

細胞を播種すべき材料と細胞分散液とを培養容器へ収容して密閉した後、該培養容器を2つの異なる回転軸を中心にして回転させることにより細胞を播種する方法であって、該培養容器を回転するための細胞播種装置の回転駆動部材のうち、少なくとも1つの該回転駆動部材の軸芯が該培養容器の該回転軸とオフセットした位置に配置されていることを特徴とする細胞播種方法。

【請求項 9】

該培養容器は2つの異なる回転軸を中心にして回転し、かつ該2つの異なる回転軸は互いに交差していることを特徴とする、請求項8に記載の細胞播種方法。

【請求項 10】

該培養容器は2つの異なる回転軸を中心にして回転し、かつ該2つの異なる回転軸は互

いに交差していないことを特徴とする、請求項 8 に記載の細胞播種方法。

【書類名】明細書

【発明の名称】立体表面への均一な細胞播種装置及び方法

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞を播種すべき材料と細胞分散液を2軸以上の回転下にて維持することにより、複雑な立体表面に均一に細胞を播種させることを達成する方法および装置に関する。

【背景技術】

【0002】

通常複雑な立体表面を有する付着性細胞の培養においては、細胞を収容する培養容器内に細胞分散液を入れ、この培養容器を複数の回転軸の回りに回転しながら均一に細胞を播種し、培養する細胞培養方法および装置が公開特許公報（特開2002-316899号）により知られている。

【0003】

しかし、このような細胞培養装置は、培養容器が回転する複数の回転軸と同軸に装置の回転駆動部材が配置されているため、装置の構造が複雑で、かつ高価であり、また、培養容器の芯出しに手間が掛るために培養容器へのアクセスが容易でないという問題があった。

【0004】

さらに、このような細胞培養装置は、培養容器を複数の回転軸の回りに回転して疑似無重力状態を作り出すため、培養容器の中に収容された細胞を培養すべき材料の周囲に存在する細胞分散液を十分に流動させることができず、このため、細胞分散液の劣化や濃度偏析を引き起こすといった問題があった。

【0005】

このような問題を解決するために、近年では公開特許公報（特開2002-45173号および特開2003-70458号）に開示されているような、回転中の培養容器内へ外部から細胞分散液を強制循環させる方法および装置も開発されているが、依然として装置の構造は複雑で、かつ、分散液を循環させるための配管の脱着等が容易でないという問題があった。

【特許文献1】特開2002-316899号公報

【特許文献2】特開2002-45173号公報

【特許文献3】特開2003-70458号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明の目的は、培養容器を2つの異なる回転軸を中心にして回転させるための装置の回転駆動部材のうち、少なくとも1つの回転駆動部材の軸芯を培養容器の回転軸とオフセットした位置に配置することにより、装置の構造がシンプルで、かつ安価であり、また、培養容器へのアクセスが容易な細胞播種方法および装置を提供することにある。

【0007】

さらに、本発明の他の目的は、培養容器を2つの異なる回転軸を中心にして回転するための装置の回転駆動部材のうち、少なくとも1つの回転駆動部材の軸芯を培養容器の回転軸とオフセットさせ、かつ前記2つの異なる回転軸を互いに交差しない位置に配置することにより、培養容器に偏芯した回転運動を与え、培養容器の中の細胞分散液中の細胞を自己分散させることを可能とする細胞播種方法および装置を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0008】

上記目的を達成するため、本発明による細胞播種装置は、細胞を播種すべき材料と細胞分散液とを収容した培養容器を、2つの異なる回転軸を中心にして回転させ、かつ装置の回転駆動部材のうち、少なくとも1つの回転駆動部材の軸芯を培養容器の回転軸とオフセ

ットした位置に配置することにより、培養容器が回転する回転軸をいわゆるシャフトのような装置の回転駆動部材と同軸に配置しないようにした。

【0009】

また、本発明による細胞播種装置は、細胞を播種すべき材料と細胞分散液とを収容した培養容器と、培養容器を回転自在に、かつ取外し自在に固定し、そして培養容器を第1の回転軸を中心にして回転させるための第1の回転駆動装置と、第1の回転駆動装置を第1の回転軸とは異なる第2の回転軸を中心にして回転させるための第2の回転駆動装置とから構成されている。そのため第1の回転駆動装置を第2の回転駆動装置から容易に取外し、播種された材料を培養容器内で無菌環境に保ったまま、例えばインキュベーター中で細胞の培養を継続することを可能にする。

【0010】

また、本発明による細胞播種装置は、培養容器が回転する回転軸とオフセットした位置に少なくとも1つの回転駆動部材の軸芯を配置しているため、培養容器の回転軸の絶対位置および相対位置を任意に設定することができる。

【発明の効果】**【0011】**

本発明により、装置の構造がシンプルで、かつ安価であり、また、培養容器へのアクセスが容易な細胞播種方法および装置が提供される。

【0012】

また、本発明により、培養容器内に収容された細胞分散液中の細胞を自己分散することができる細胞播種方法および装置が提供される。

【発明を実施するための最良の形態】**【0013】**

以下、図面を参照しながら、本発明による細胞播種方法および装置の最良の実施形態を説明する。

【0014】

図1は、本発明による細胞播種装置1の全体概要を示している。

【0015】

細胞播種装置1は、細胞を播種すべき材料4bと細胞分散液40c（図4参照）とを培養容器4へ収容して密閉した後、この培養容器4を回転自在に、かつ取外し自在に固定し、そして培養容器4を第1の回転軸5を中心にして回転させるための第1の回転駆動装置2と、第1の回転駆動装置2を第1の回転軸5とは異なる第2の回転軸6を中心にして回転させるための第2の回転駆動装置3から構成される。

【0016】

第1の回転駆動装置2の回転運動は、第1の回転駆動装置2のハウジング2aを支持するように取付けられた2つの回転輪2bと、第2の回転駆動装置3の2つの回転駆動ロール3bを互いに接触させることにより、両者の間に生じる摩擦力を利用して、回転駆動ロール3bから伝達される。

【0017】

また、第2の回転駆動装置3の回転駆動ロール3bから、第1の回転駆動装置2の回転輪2bへ回転運動を伝達する手段としては、両者の間に生じる摩擦力を利用したものであれば特に制限されるものでなく、例えば、回転駆動ロール3bおよび回転輪2bの表面を歯車形状として、両者を噛み合わせることによって回転駆動ロール3bの回転運動を伝達するようなものであってもよい。

【0018】

このように、第1の回転駆動装置2は、それ自体が第2の回転駆動装置3の回転駆動ロール3bにより、第2の回転軸6を中心にして回転するものであるが、この回転軸6の延長線上にはシャフトのような第1の回転駆動装置2を回転させるための回転駆動部材はない。

【0019】

すなわち、本発明による細胞播種装置は、第1の回転駆動装置2を第2の回転軸6を中心にして回転させるための回転駆動ロール3bの軸芯を、第2の回転軸6とオフセットした位置に配置しているため、装置の構造がシンプルで、かつ安価に製作できるという効果がある。

【0020】

また、本発明による細胞播種装置1は、第2の回転軸6の延長線に第1の回転駆動装置2と直結し、かつ回転駆動するための回転駆動部材を有さないから、第1の回転駆動装置2を第2の回転駆動装置3から容易に取外し、または第2の回転駆動装置へ容易に取付けることができるという効果がある。

【0021】

図2は、本発明による細胞培養装置1の培養容器4を取外した状態での第1の回転駆動装置2の全体概要を示している。

【0022】

第1の回転駆動装置2は、培養容器4を第1の回転軸5（図1、図4参照）を中心にして回転自在に固定するためのハウジング2aの外側で、対向する側面のそれぞれに取付けられた2つの回転輪2b、および培養容器4を第1の回転軸5を中心にして回転させるための容器回転駆動装置2cから構成される。

【0023】

ハウジング2aは、培養容器4と2つの回転輪2b、および容器回転駆動装置2cを固定できる構造および形状であれば特に制限されるものでないが、本発明によるハウジング2aは、ハウジングの耐久性、重量および培養容器4へアクセスの容易性を考慮して、1対の側壁、1対の端壁および底壁からなる5つの面から構成される箱型形状（構造）とした。

【0024】

また、ハウジング2aには、後で詳述する容器回転駆動装置2cをハウジングの外部へ、または内部へ容易に脱着できるように切欠部20aが2つの側壁の上部に設けられている。

【0025】

また、ハウジング2aの内部には、培養容器4を第1の回転軸5（図1、図4参照）を中心にして回転自在に、かつ取外し自在に固定するための支持ローラー21aが適当に配置される。

【0026】

容器回転駆動装置2cは、培養容器4に第1の回転軸5を中心にした回転運動を伝達するための回転駆動シャフト21cと一体となった回転運動伝達ローラー20cと、回転駆動シャフト21cを回転自在に支承し、かつハウジング2aに取付けるための2つのベアリング22c、および前記回転駆動シャフト21cを回転するための駆動ユニット23cから構成される。

【0027】

さらに、前記駆動ユニット23cの中には、外部からの電源供給を受けることなく回転駆動シャフト21cを回転するための電気モーター、バッテリーおよび制御装置（いずれも図示せず）が含まれている。

【0028】

そのため、第1の回転駆動装置2は、外部との配線が不要であり、したがって、第1の回転駆動装置2によって第1の回転軸5を中心にして回転させられる培養容器4と、第2の回転駆動装置3によって第2の回転軸6を中心にして回転させられる第1の回転駆動装置2は、相互に独立して回転および停止をすることができる。

【0029】

また、駆動ユニット23cは、ハウジング2aの側壁に設けられた切欠部20aに回転駆動シャフト21cを通過させながら、上方または下方へ一体的に移動および固定ができるようになっているため、培養容器4の外周部に取付けられた回転部材4bの大小にかか

わらず、柔軟に接触を保つことができるように取付位置を調節することができる。

【0030】

実際に培養容器 4 を第 1 の回転駆動装置 2 の中にセットする場合は、ハウジング 2 a 内部に適当に配置された支持ローラー 2 0 c の上に培養容器 4 を支持する回転部材 4 b を整合するように配置して、その上から駆動ユニット 2 3 c の回転伝達ローラー 2 0 c が培養容器 4 を支持する回転部材 4 b へ接触するように軽く押付け、駆動ユニット 2 3 c の 2 つのベアリング 2 2 c をハウジング 2 a の側壁に適当な手段を用いて固定するだけでよい。

【0031】

また、培養容器 4 を第 1 の回転駆動装置 2 から取り出す場合は、上記取付手順を逆に進めればよいから、培養容器 4 へのアクセスが極めて容易になる。

【0032】

図 3 は、本発明による細胞培養装置 1 の第 1 の回転駆動装置 2 を取外した状態での第 2 の回転駆動装置 3 の全体概要を示している。

【0033】

第 2 の回転駆動装置 3 は、第 1 の回転駆動装置 2 を支持し、かつ回転させるための 2 本の平行に配置される回転駆動ロール 3 b と、この回転駆動ロール 3 b を支承し、ロール 3 b を駆動するための電気モーターおよび制御装置（いずれも図示せず）を含む本体部 3 a から構成される。

【0034】

第 2 の回転駆動装置 3 は、第 1 の回転駆動装置 2 の回転輪 2 b を 2 本のロールを用いて支持できるものであれば特に制限はなく、市販の回転駆動装置であってもよい。

【0035】

図 4 は、本発明による細胞播種装置 1 に取付ける培養容器 4 の全体概要を示す。

【0036】

培養容器 4 は、中空のチャンバー 4 0 a を有する円筒形の容器本体 4 a とその外周領域を取り囲み、かつ容器本体 4 a を支持するように取付けられた回転部材 4 b、および培養容器 4 のチャンバー 4 0 a 内に細胞を播種すべき材料 4 0 b と細胞分散液 4 0 c とを収容した後、チャンバー 4 0 a を密閉するためのプラグ 4 c とから構成される。

【0037】

なお、図 4 に示される本発明による培養容器 4 の回転部材 4 b は、容器本体 4 a の形状を円筒形とすることにより容器本体 4 a と一体化して、単純化かつコンパクトにしたものである。

【0038】

このように、培養容器 4 の本体 4 a を支持するように取付けられる回転部材 4 b は、容器本体 4 a と一体化したもの、または分離独立したもののいずれであってもよく、要は、回転部材 4 b が培養容器本体 4 a を支持し、かつ第 1 の回転駆動装置 2 のハウジング 2 a 内に取付けられた支持ローラー 2 1 a と整合して回転自在に取付けられるものであれば、回転部材 4 b の形状および構造に特に制限はない。

【0039】

また、本件発明による培養容器本体 4 a は、外部からの視認性を考慮して、透明なプラスチック容器またはガラス容器などであることが好ましい。

【0040】

また、本発明による細胞播種装置 1 においては、細胞を播種すべき材料 4 0 b として、ヒト組織だけでなく、ブタ、ウシ等のほ乳類および魚類、両生類、は虫類、鳥類などの脊椎動物、およびその他の動物または植物などの生物由来組織や合成組織を対象とすることができる。

【0041】

以上の説明からも明らかである通り、本発明による細胞播種装置 1 は、培養容器 4 を 2 つの異なる回転軸を中心にして回転させるための回転駆動部材 2 c、3 b うち、少なくとも 1 つ、好ましくは 2 つの回転駆動部材 2 c、3 b の軸芯が培養容器の回転軸 5、6 とオ

フセットした位置に配置されているため、回転部材 2 b、4 b の直径を変更することで培養容器 4 の回転軸 5、6 の絶対位置および相対位置を任意に設定することができる。

【0042】

すなわち、本発明による細胞播種装置 1 は、培養容器 4 の回転軸である第 1 の回転軸 5 と第 1 の回転駆動装置 2 の回転軸である第 2 の回転軸 6 とを、それぞれの回転部材 2 b、4 b の直径を変更することで互いに交差させることも、交差させないこともできる。

【0043】

したがって、第 1 の回転軸 5 と第 2 の回転軸 6 とを培養容器 4 のチャンバー 40 a 内で交差させた場合は、培養容器 4 内に擬似無重力状態を作り出すことができる。

【0044】

また、第 1 の回転軸 5 と第 2 の回転軸 6 とを交差させない場合は、培養容器 4 の回転の中心 5 が第 2 の回転軸 6 から偏芯した位置で回転することになるため、この場合は、培養容器 4 内に重力加速度が与えられ、培養容器 4 中の細胞分散液 40 c 中の細胞を容易に自己分散させることができる。

【0045】

次に、本発明による細胞播種装置 1 を用いて細胞播種を行なった実験結果を以下に示す。

【実施例 1】

【0046】

本発明による細胞播種装置 1 の第 1 の回転駆動装置 2 内に血管内皮細胞分散液を封入したチャンバー 40 a の内径 3 mm のガラス容器 4 を設置し、ガラス容器 4 を第 1 の回転軸 5 の回りに毎分 12 回転、そしてガラス容器 4 を取付けた第 1 の回転駆動装置 2 を第 2 の回転軸 6 の回りに毎分 4 回転回転させて 2 時間回転したところ、図 5 に示すようにガラス容器 4 内に均一に細胞を播種することができた。

【実施例 2】

【0047】

本発明による細胞播種装置 1 の第 1 の回転駆動装置 2 内に血管内皮細胞分散液を封入したチャンバー 40 a の内径 1 cm のガラス容器 4 を設置し、ガラス容器 4 を第 1 の回転軸 5 の回りに毎分 12 回転、そしてガラス容器 4 を取付けた第 1 の回転駆動装置 2 を第 2 の回転軸 6 の回りに毎分 4 回転回転させて 2 時間回転したところ、図 6 に示すようにガラス容器の側面および底面ともに均一に細胞を播種することができた。

【実施例 3】

【0048】

本発明による細胞播種装置 1 の培養容器 4 内に、あらかじめ細胞を除去したミニブタ心臓弁組織を血管内皮分散液とともに封入し、培養容器 4 を第 1 の回転軸 5 の回りに毎分 12 回転、そして培養容器 4 を取付けた第 1 の回転駆動装置 2 を第 2 の回転軸 6 の回りに毎分 4 回転回転させて 2 時間回転したところ、図 7 に示すように心臓弁の血管壁内および心臓弁葉表面ともに均一に細胞を播種することができた。

【図面の簡単な説明】

【0049】

【図 1】 本発明による細胞播種装置の全体概要を示した図である。

【図 2】 本発明による第 1 の回転駆動装置の全体概要を示した図である。

【図 3】 本発明による第 2 の回転駆動装置の全体概要を示した図である。

【図 4】 本発明による培養容器の全体概要を示した図である。

【図 5】 本発明による細胞播種方法を実施した結果を示す図である。（実施例 1）

【図 6】 本発明による細胞播種方法を実施した結果を示す図である。（実施例 2）

【図 7】 本発明による細胞播種方法を実施した結果を示す図である。（実施例 3）

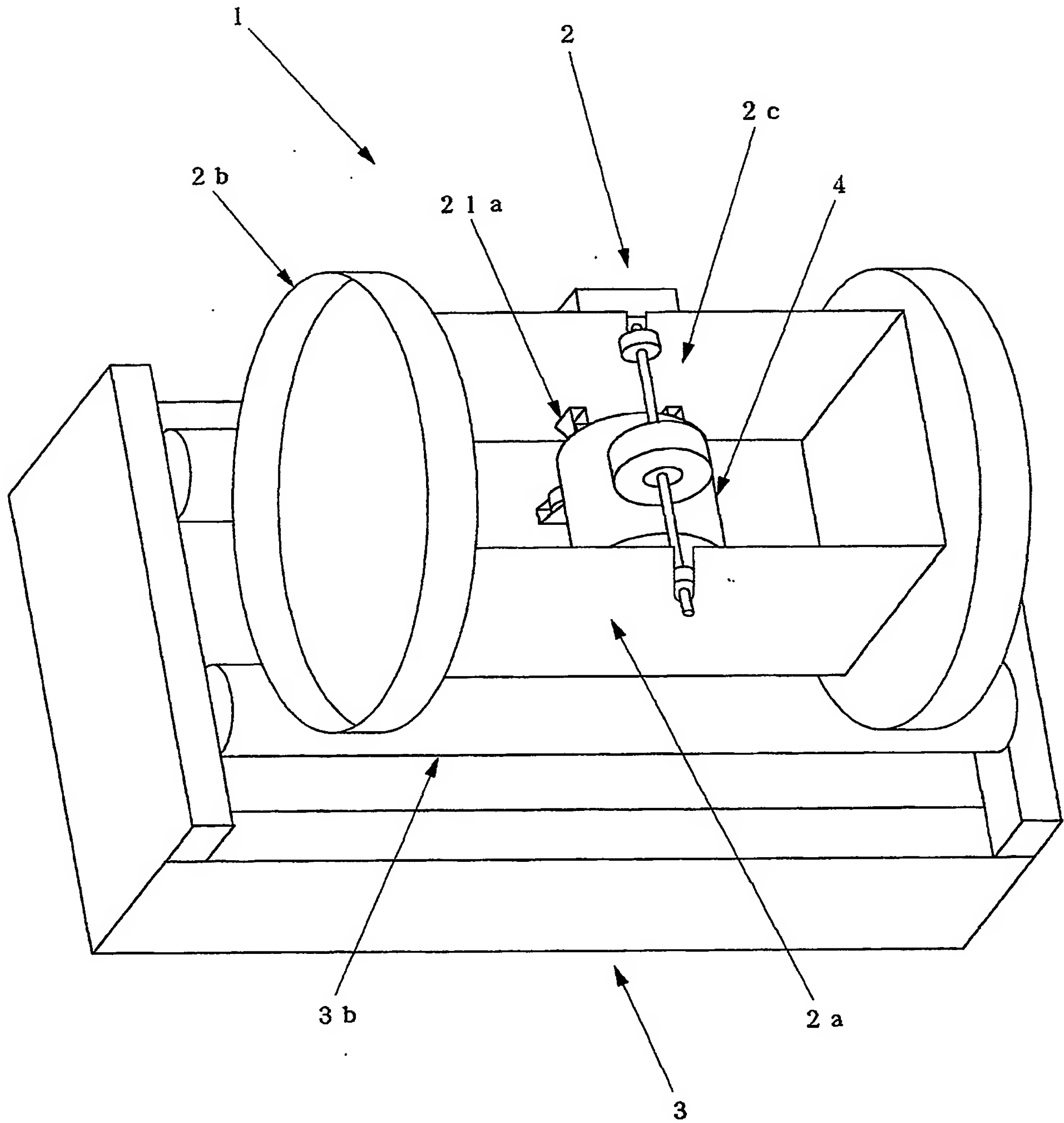
【符号の説明】

【0050】

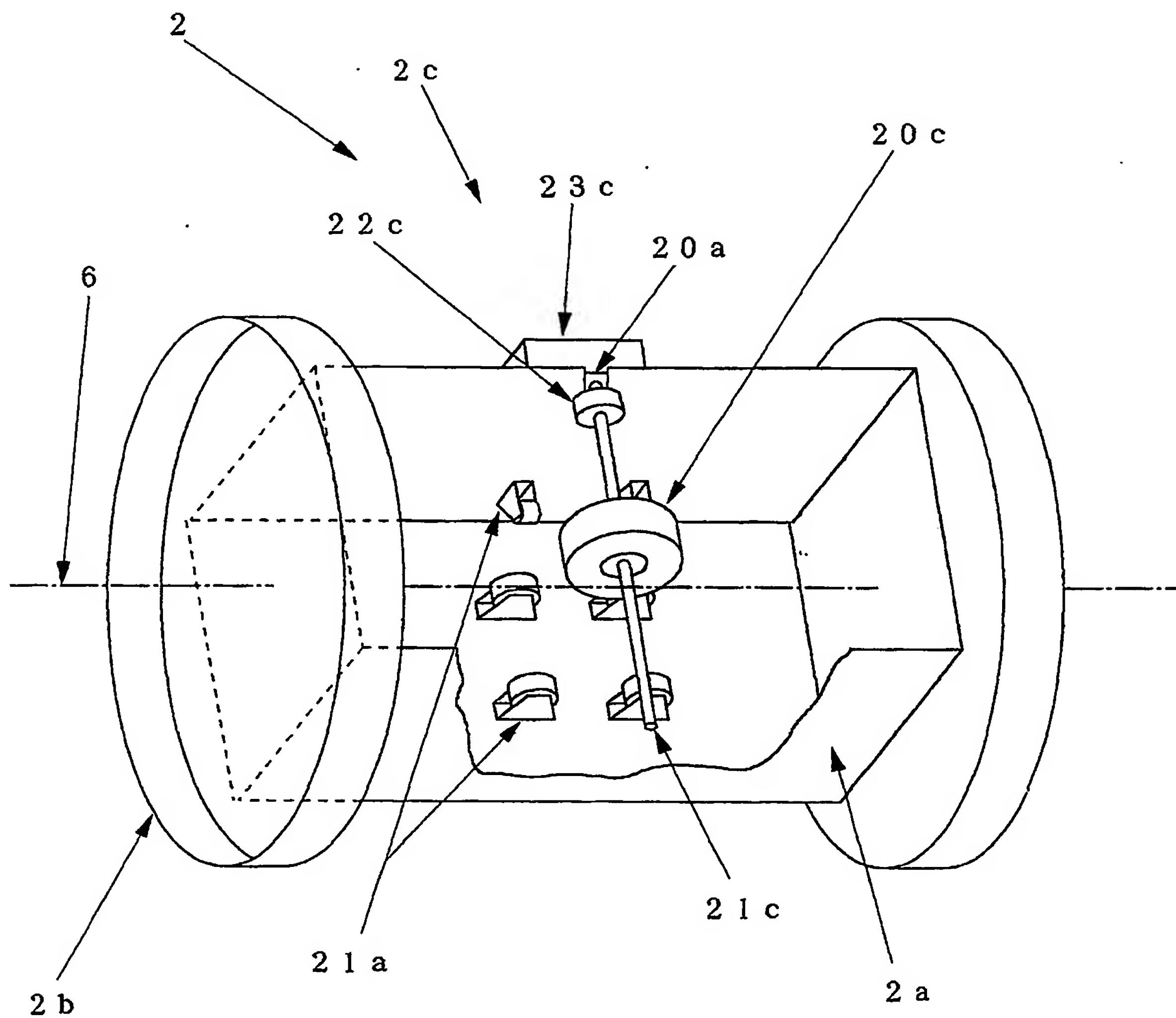
1 細胞播種装置

- 2 第 1 の回転駆動装置
 - 2 a ハウジング
 - 2 0 a 切欠部
 - 2 1 a 支持ローラー
 - 2 b 回転輪 (第 2 の回転部材)
 - 2 c 容器回転駆動装置
 - 2 0 c 回転運動伝達ローラー (第 1 の回転駆動部材)
 - 2 1 c 回転駆動シャフト
 - 2 2 c ベアリング
 - 2 3 c 駆動ユニット
- 3 第 2 の回転駆動装置
 - 3 a 本体部
 - 3 b 回転駆動ロール (第 2 の回転駆動部材)
- 4 培養容器
 - 4 a 容器本体
 - 4 0 a チャンバー
 - 4 0 b 細胞を播種すべき材料
 - 4 0 c 細胞分散液
 - 4 b 回転部材 (第 1 の回転部材)
 - 4 c プラグ
- 5 第 1 の回転軸
- 6 第 2 の回転軸

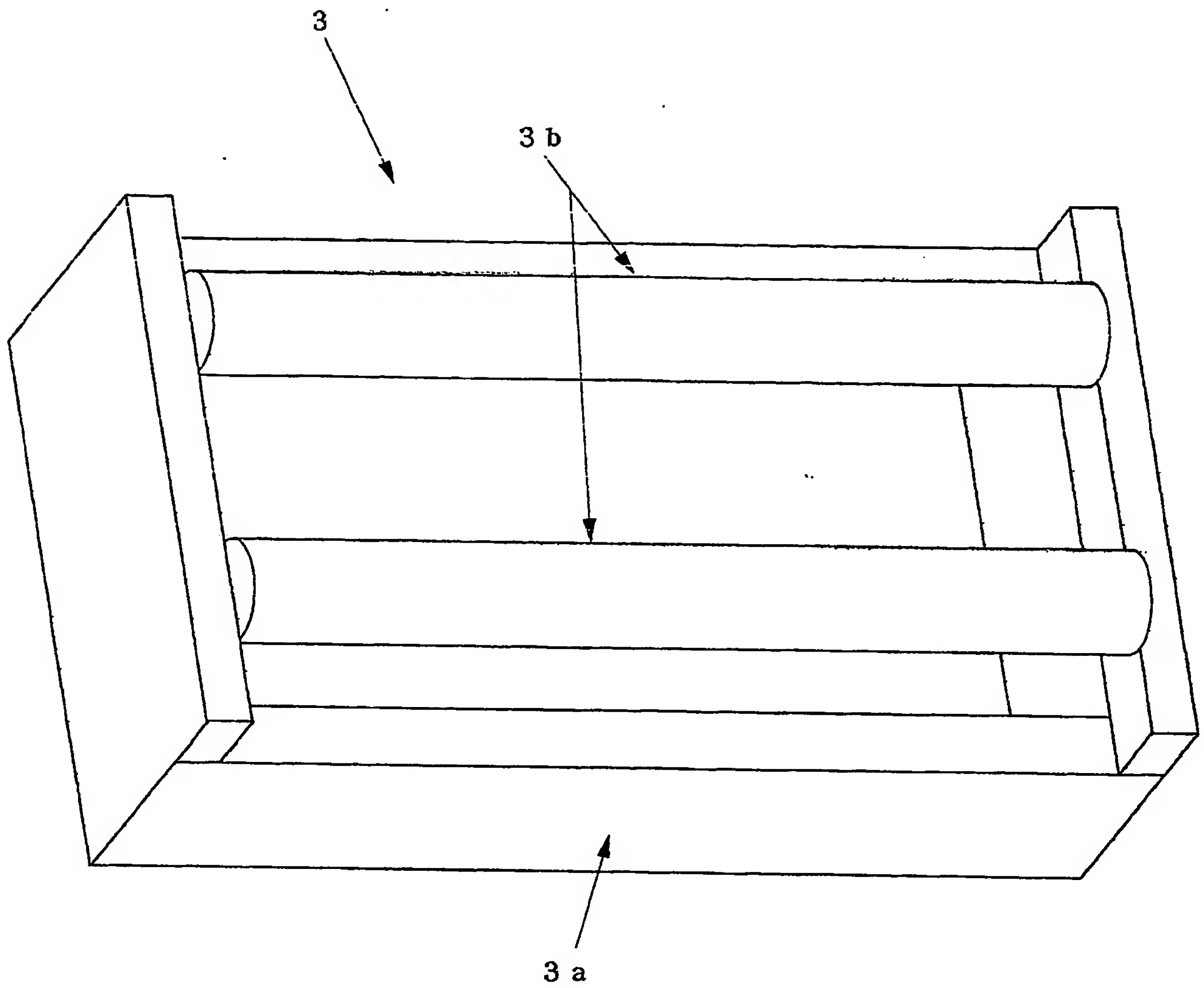
【書類名】 図面
【図 1】



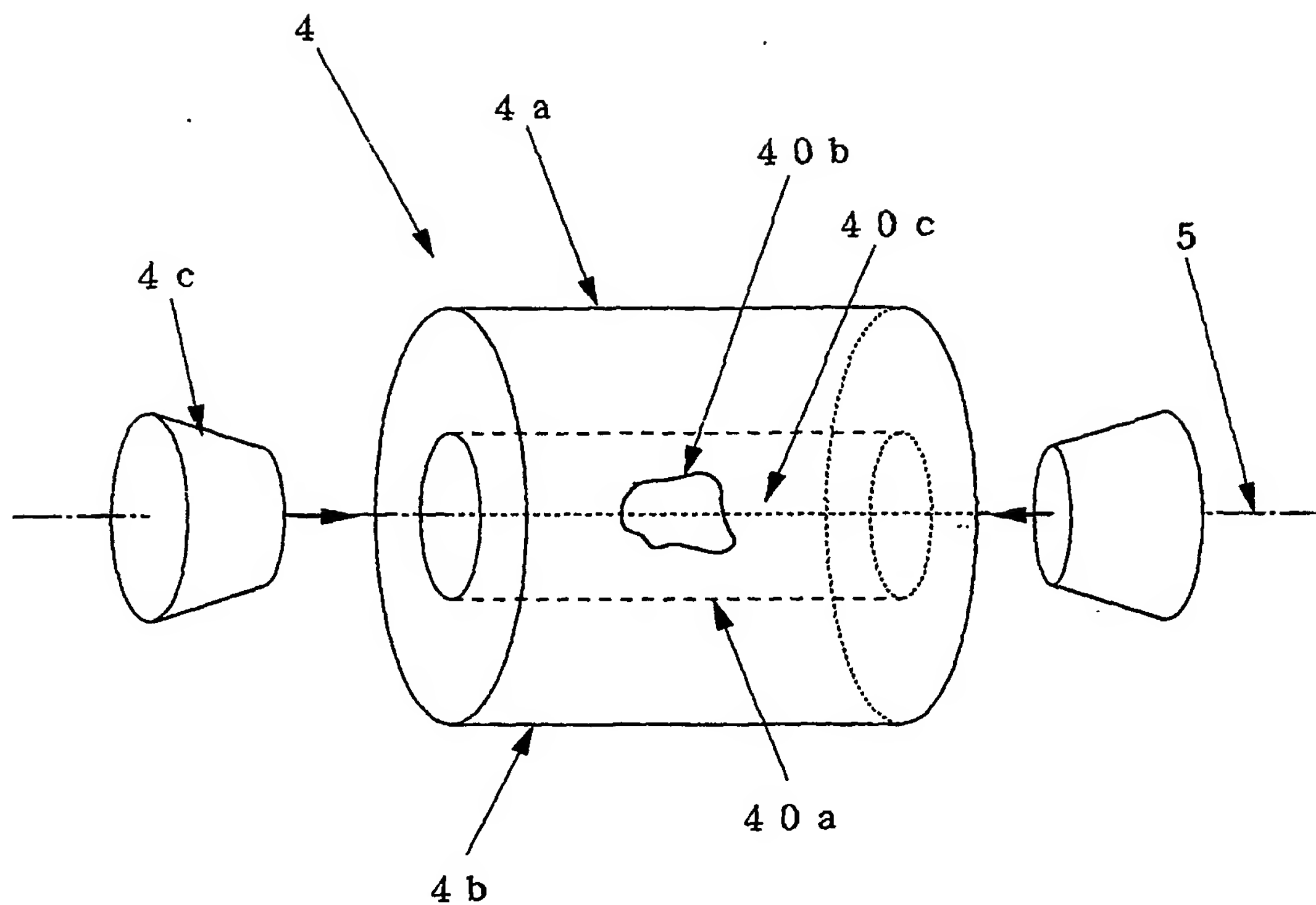
【図 2】



【図 3】



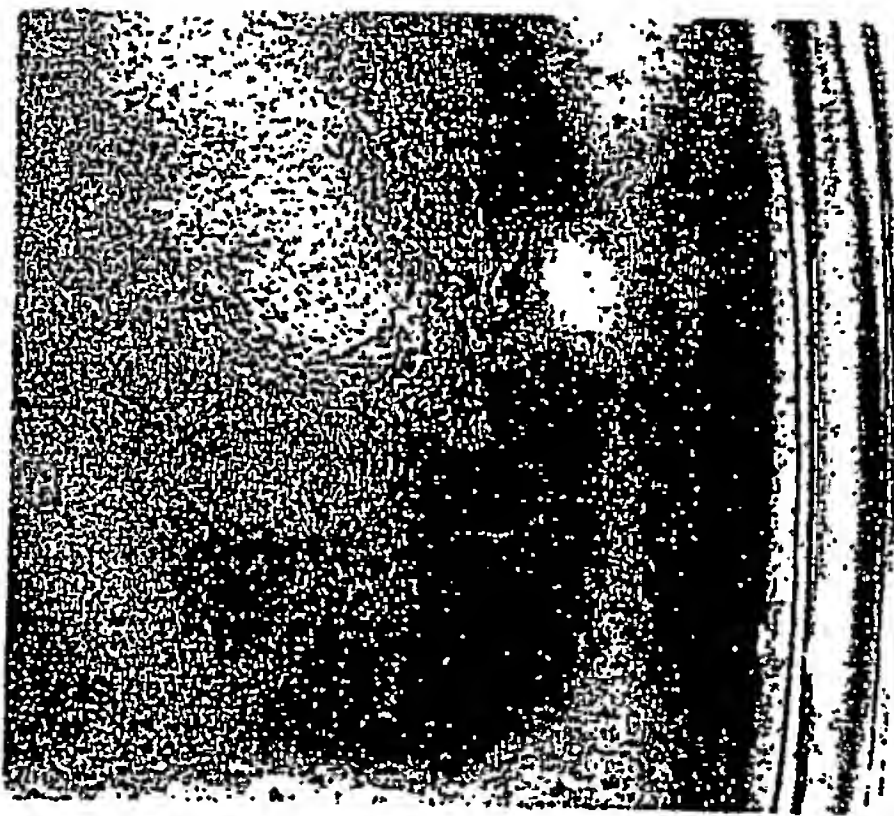
【図 4】



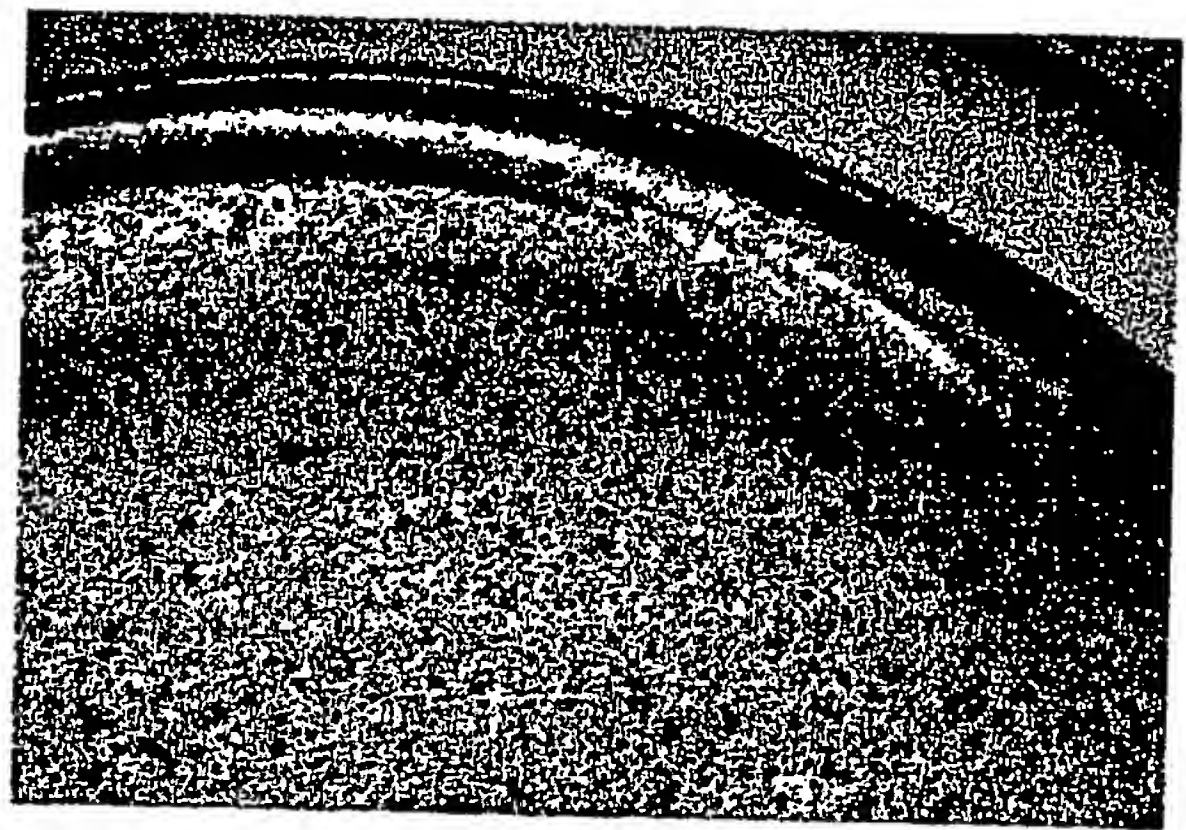
【図 5】



【図 6】

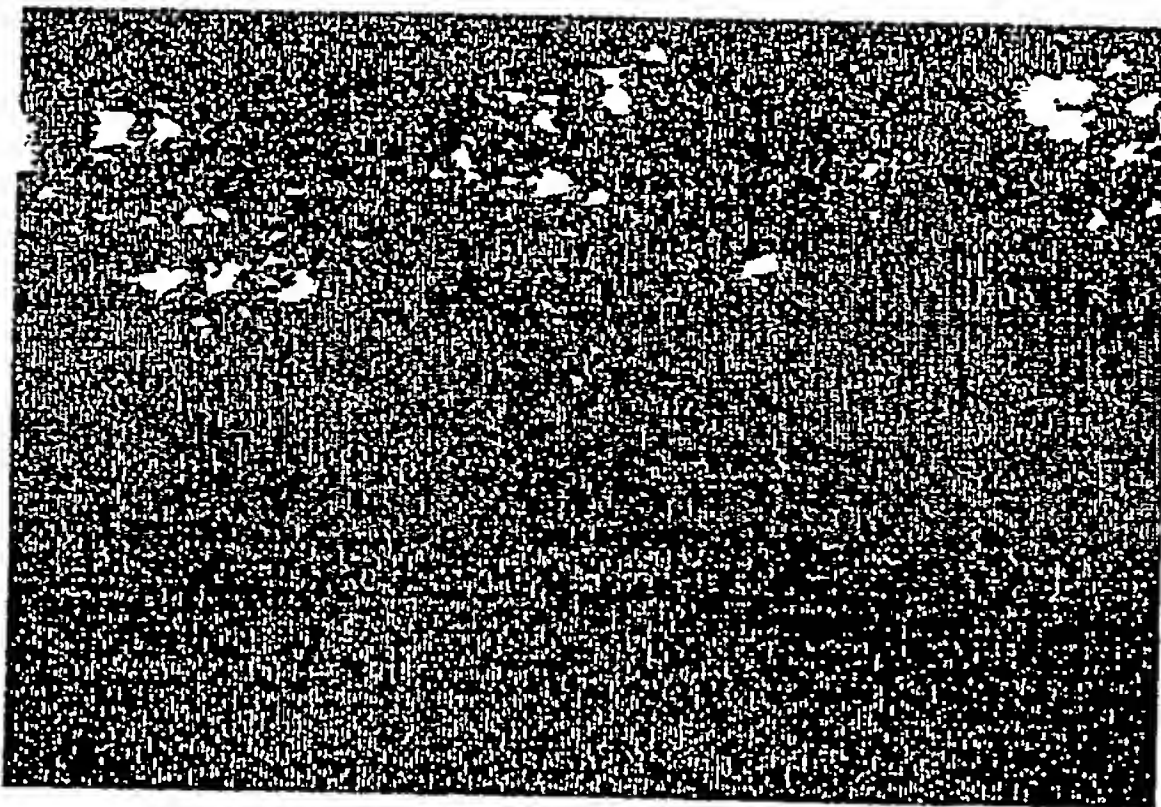


側面

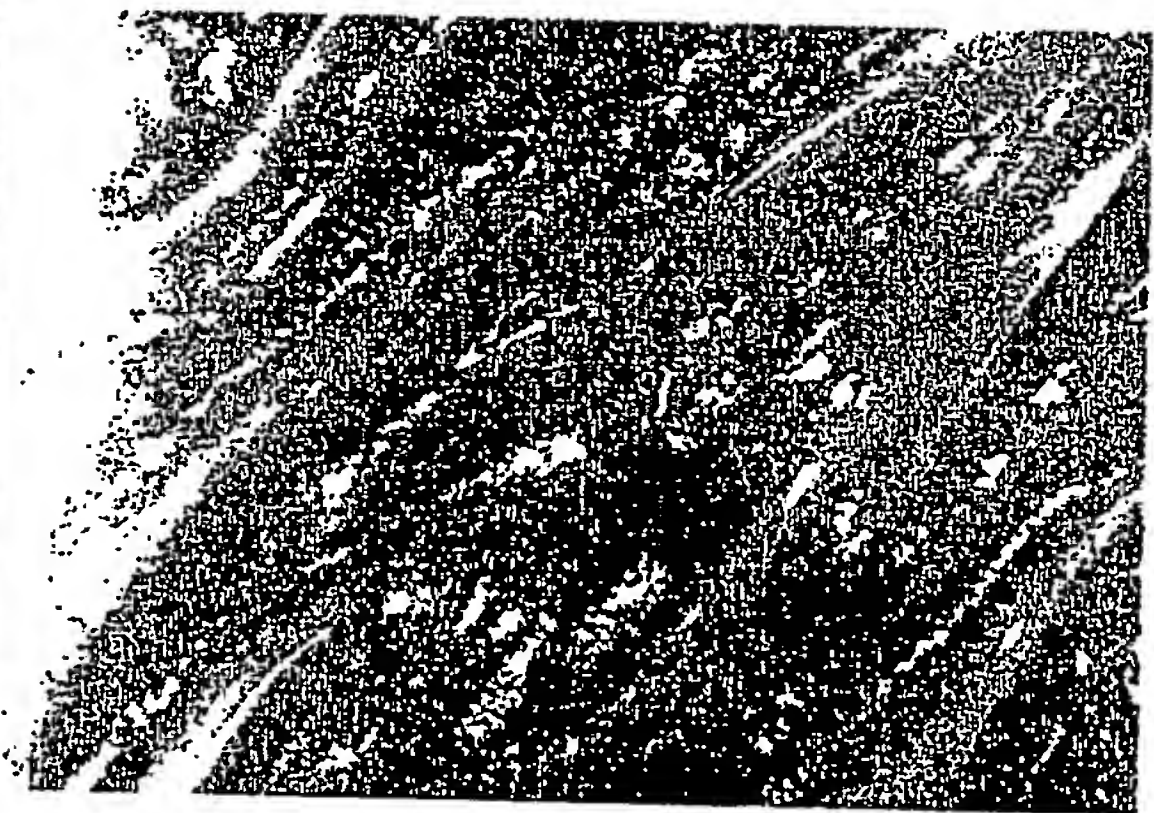


底面

【図 7】



血管壁面



心臓弁葉表面

BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 要約書

【要約】

細胞を播種すべき材料と細胞分散液とを収容した培養容器を、2つの異なる回転軸を中心にして回転させる細胞播種装置であって、該装置の回転駆動部材のうち、少なくとも1つ好ましくは2つの回転駆動部材の軸芯が該培養容器の回転軸とオフセットした位置に配置されていることを特徴とする。

また、細胞を播種すべき材料と細胞分散液とを培養容器へ収容して密閉した後、該培養容器を2つの異なる回転軸を中心として回転させることにより細胞を播種させる方法であって、上記の細胞播種装置を使用することを特徴とする。

【選択図】 図1

特願 2 0 0 3 - 2 9 4 7 6 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[5 9 1 1 0 8 8 8 0]

1. 変更年月日
[変更理由]
住 所
氏 名

1 9 9 1 年 5 月 2 4 日
新規登録
大阪府吹田市藤白台 5 丁目 7 番 1 号
国立循環器病センター総長